

| | |
|---------|---|
| 学位授与番号 | 医博乙第1158号 |
| 学位授与年月日 | 平成4年2月5日 |
| 氏名 | 仲 克 巳 |
| 学位論文題目 | 骨吸収におけるmatrix metalloproteinase 9 (92k Daゼラチナーゼ/IV型コラゲナーゼ) —その性質と破骨細胞での局在に関する研究— |
| 論文審査委員 | 主 査 教 授 富 田 勝 郎 副 査 教 授 中 西 功 夫 教 授 中 沼 安 二 |

内容の要旨および審査の結果の要旨

Matrix metalloproteinase 9 (MMP-9, 92kDaゼラチナーゼ/IV型コラゲナーゼ) は最近その一次構造が決定されたMMP遺伝子ファミリーの新しいメンバーである。本研究ではMMP-9の石灰化骨基質分解への関与を証明する目的で、本酵素の性質と破骨細胞および骨巨細胞腫における免疫組織化学的局在を検討した。ヒト線維肉腫細胞から精製したMMP-9は、酸可溶性I型コラーゲンの $\alpha 2$ 鎖アミノ基末端に存在する非ヘリックス部を特異的に分解する他、酸不溶性I型コラーゲンの不溶性重合体を可溶化した。また、III型とV型コラーゲン、I型ゼラチン及びヒトロネクチンも分解された。さらに、MMP-9は脱灰骨組織中のコラーゲン線維を分解することが電顕的に確かめられた。MMP-9のゼラチン分解活性はpH7.5-8.0で最大を示すが、pH5.5-6.0でも全活性の50-80%保持されていた。また、50mMと100mM Ca^{++} 存在下でも90%の活性が認められた。フィブリル化した酸可溶性I型コラーゲンでは、 $\beta 1$ 、2鎖と $\alpha 2$ 鎖の分解は100mMまで Ca^{++} 濃度依存性に亢進した。これらのデータは、骨吸収窩における酸性 (pH4-5) かつ高カルシウム (40-50mM) の特殊な環境下でもMMP-9が骨基質を分解し得ることを示している。合成ペプチドを抗原として作製したモノクローナル抗体をELISA法、イムノブロット法及び免疫染色でスクリーニングし、潜在型MMP-9に対する2個の特異抗体 (57-13D8と56-2A4) を得た。56-2A4を用いた免疫組織染色では、MMP-9は慢性関節リウマチ (RA) 滑膜組織に浸潤した好中球やマクロファージの他、滑膜表層細胞に局在した。RA関節軟骨・骨組織では、破骨細胞が強陽性に染色された。また、MMP-9の破骨細胞における局在は正常モルモットおよび抗原誘導型関節炎組織においても認められた。骨巨細胞腫では、検討した7症例全例でMMP-9は巨細胞に局在し、腫瘍組織培養液中には分子量92,000のゼラチン分解活性をもつ潜在型MMP-9の存在がイムノブロット法とゼラチンサブストレートゲル法で証明された。さらに、これらの破骨細胞と骨巨細胞腫の巨細胞にはヒトロネクチンレセプターの存在が免疫組織化学的に観察された。これらの所見から、破骨細胞や骨巨細胞腫で合成・分泌されたMMP-9は石灰化骨基質中の細胞外マトリックスの分解により骨吸収に重要な役割を果たすことが強く示唆された。

以上、本研究は骨吸収におけるMMP-9の関与を初めて明らかにしたもので、骨代謝研究の進歩に寄与する有用な論文と評価された。